

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) Veröffentlichungsnummer: **0 448 093 A3**

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: **91104422.0**

(51) Int. Cl.⁵: **C12N 15/15, C12P 21/02**

(22) Anmeldetag: **21.03.91**

(30) Priorität: **22.03.90 DE 4009268**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
25.09.91 Patentblatt 91/39

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU NL SE

(88) Veröffentlichungstag des später veröffentlichten
Recherchenberichts: **04.12.91 Patentblatt 91/49**

(71) Anmelder: **Consortium für elektrochemische
Industrie GmbH
Zielstattstrasse 20
W-8000 München 70(DE)**

(72) Erfinder: **Schmid, Gerhard, Dr.
Dorfstrasse 9a
W-8000 München 60(DE)
Erfinder: Habermann, Paul, Dr.
Rossertstrasse 35
W-6239 Eppstein (Taunus)(DE)**

(54) **Sekretion von Hirudinderivaten.**

(57) Ein Verfahren zur Gewinnung von Hirudinderiva-
ten aus E. coli-Sekretormutanten, bei dem man

- (1) einen rekombinanten Vektor konstruiert, auf dem sich das für ein Hirudinderivat kodierende Gen direkt hinter einem DNA-Abschnitt befindet, der für ein bakterielles Signalpeptid kodiert,
- (2) mit dem in Schritt (1) konstruierten rekombinanten Vektor eine E. coli-Sekretormutante transformiert,
- (3) die transformierten Zellen in einem Medium kultiviert und
- (4) das Hirudinderivat aus dem Medium gewinnt, sowie ein rekombinanter Vektor, der eine oder mehrere Kopien eines Genkonstruktes enthält, das für ein Protein, bestehend aus einem bakteriellen Signalpeptid und einem Hirudinderivat, kodiert und ein Hirudinderivat mit der N-terminalen Aminosäuresequenz A -Thr-Tyr-Thr-Asp, worin A für Ala, Gln, His, Phe, Tyr, Glu, Ser, Asp oder Asn steht.

EP 0 448 093 A3



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 91 10 4422

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.5)
Y	EP-A-0 352 228 (CIBA-GEIGY) * Seite 5, Zeilen 14-31, 46-49; Ansprüche *	1-21	C 12 N 15/15 C 12 P 21/02
X	---	17, 18	
Y	EP-A-0 356 335 (SANOFI S.A.) * Ansprüche *	1-21	
Y	FEBS LETTERS, Band 202, Nr. 2, Juni 1986, Seiten 373-377; J. DOOT et al.: "Expression, secretion and processing of hirudin in E. coli using the alkaline phosphatase signal sequence" * Das ganze Artikel *	1-21	
D, Y	EP-A-0 338 410 (CONSORTIUM FÜR ELEKTROCHEMISCHE IND. GmbH) * Ansprüche; Seite 3, Zeilen 43-53 *	1-21	
P, Y	APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, Band 34, Nr. 2, November 1990, Seiten 203-207, Springer-Verlag; E. BENDER et al.: "Synthesis and secretion of hirudin by Streptomyces lividans" * Zusammenfassung; Seite 204, Abbildung 16 *	1-21	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.5) C 12 N
P, X	IDEM -----	17	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchewort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 13-06-1991	
		Prüfer HUBER A.	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X: von besonderer Bedeutung alleine betrachtet Y: von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A: technologischer Hintergrund O: nichtöffentliche Offenbarung P: Zwischenliteratur			
T: der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E: älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D: in der Anmeldung angeführtes Dokument L: aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			



Europäisches
Patentamt

GEBÜHRENPFLICHTIGE PATENTANSPRÜCHE

Die vorliegende europäische Patentanmeldung enthält bei ihrer Einreichung mehr als zehn Patentansprüche.

- ☐ Alle Anspruchsgebühren wurden innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.
- ☐ Nur ein Teil der Anspruchsgebühren wurde innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die ersten zehn sowie für jene Patentansprüche erstellt für die Anspruchsgebühren entrichtet wurden,
- nämlich Patentansprüche:
- ☐ Keine der Anspruchsgebühren wurde innerhalb der vorgeschriebenen Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die ersten zehn Patentansprüche erstellt.

☒ MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung; sie enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

Siehe Blatt -B-

- ☐ Alle weiteren Recherchegebühren wurden innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.
- ☐ Nur ein Teil der weiteren Recherchegebühren wurde innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf Erfindungen beziehen; für die Recherchegebühren entrichtet worden sind,
- nämlich Patentansprüche:
- ☒ Keine der weiteren Recherchegebühren wurde innerhalb der gesetzten Frist entrichtet. Der vorliegende europäische Recherchenbericht wurde für die Teile der Anmeldung erstellt, die sich auf die zuerst in den Patentansprüchen erwähnte Erfindung beziehen,
- nämlich Patentansprüche: 1-7, 10-19, 21 und 8, 9, 20 (teilweise)

MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung; sie enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

1. Patentansprüche 1-7, 10-19, 21 und 8, 9, 20 (teilweise):
Verfahren zur Herstellung von Hirudinderivaten,
Hirudinderivate, dafür kodierende DNA, Vektor.
2. Patentansprüche 8, 9, 20 (partially): Verfahren zur
Herstellung von natürlich vorkommenden Hirudin,
Vektor dafür (für den Fall $m=0$, $Z=ile$).